

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) (21) **PI 0501179-5 A**

(22) Data de Depósito: 05/04/2005
(43) Data de Publicação: **28/11/2006**
(RPI 1873)



(51) Int. Cl⁷ .:
C12P 7/62
A61K 31/216
A61P 9/12

(54) Título: PROCESSO DE PRODUÇÃO DE (ALFA)-HIDROXI-ÉSTERES

(71) Depositante(s): Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ (BR/RJ)

(72) Inventor(es): Octavio Augusto Ceva Antunes, Joyce Benzaquem Ribeiro e Silva, Selma Gomes Ferreira Leite, Elba Pinto da Silva Bom, Edson Luiz da Silva Lima, Maria Antonieta Ferrara, Paulo Sérgio Bergo de Lacerda

(74) Procurador: Bernado Atem Francischetti

(57) Resumo: "PROCESSO DE PRODUÇÃO DE α -HIDROXI-ÉSTERES". Os compostos com a fórmula (X) e (XI) são produzidos através de redução seletiva do composto com a fórmula (XII) utilizando enzimas redutases produzidas por microorganismos pertencentes às famílias Saccharomycetaceae e/ou Dothioraceae.

Relatório Descritivo

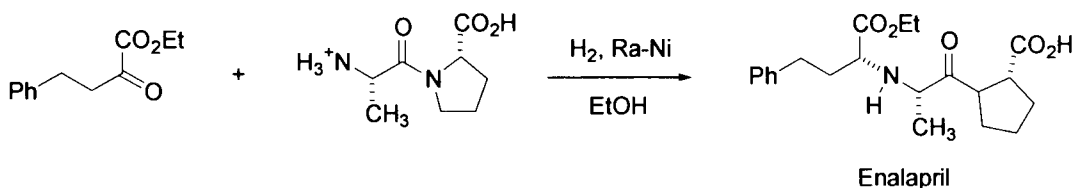
PROCESSO DE PRODUÇÃO DE α -HIDROXI-ÉSTERES

5 CAMPO DA INVENÇÃO

Esta invenção relata a produção de α -hidroxi-ésteres através da redução da carbonila de compostos pertencentes à classe dos α -ceto-ésteres ou 2-ceto-ésteres. Tal processo de redução possui alto rendimento e alta estereosseletividade devido ao fato de se utilizar enzimas, mais especificamente redutases como catalisadores.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

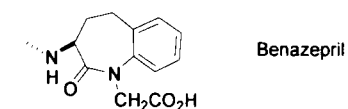
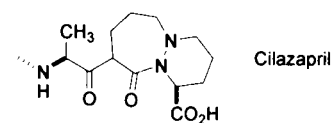
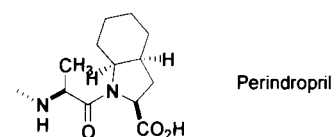
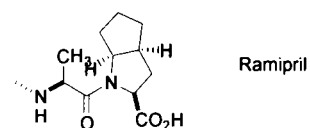
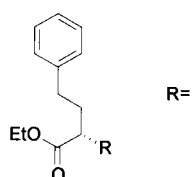
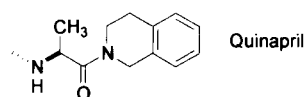
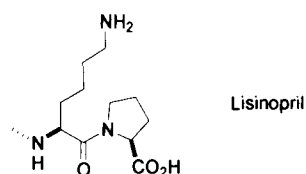
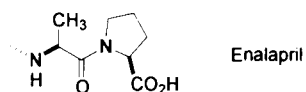
A aminação redutiva é o processo utilizado para a produção dos inibidores da enzima conversora da angiotensina (ACE) como, por exemplo, o enalapril, utilizado no tratamento da hipertensão, Harris et al, U.S. Pat. 4,374,829 (1982). Os resultados obtidos inicialmente apresentaram baixos rendimentos e baixa diastereoseletividade (SSS): (SRR), 1,06:1,00 com a utilização de NaCNBH_3 e 1,2:1 com a utilização de $\text{Pd/C}10\%$. O processo foi otimizado por Blacklock et al., J. Org. Chem. 1988, 53, 836-844, utilizando como catalisador Ra-Ni com pressão de H_2 de 40 psi, tendo sido obtida uma relação diastereoisomérica (SSS): (SRR) de 6,7:1, conforme esquema abaixo:



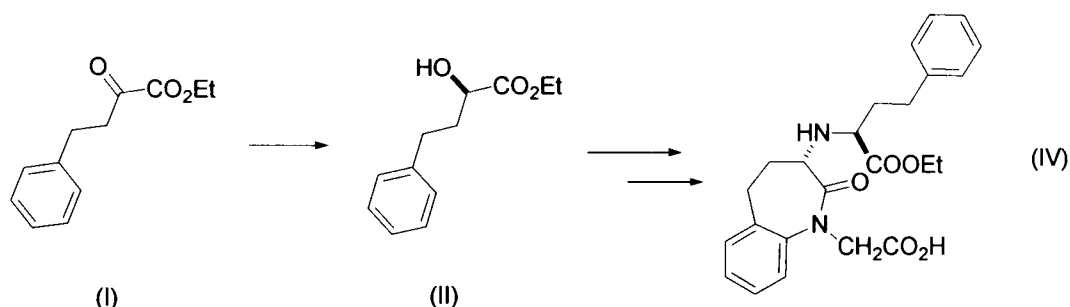
Com a utilização de 1,25 equivalente molar de ácido acético e a adição de 1,05 eq. de KF como aditivo, Huffmann et al., Tetrahedron Letters 1998, 40, 831-834, otimizaram a aminação redutiva para uma relação diastereoisomérica

(SSS): (SRR) de 17:1 utilizando Ra/Ni em condições mais brandas; temperatura ambiente e uma atmosfera de H₂.

- Através desta metodologia podem ser obtidos vários fármacos inibidores da enzima conversora da angiotensina (ACE) que são utilizados no tratamento da hipertensão como lisinopril, quinapril, ramipril, perindopril, cilazapril e benazepril.



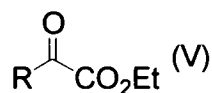
A hidrogenação enantiosseletiva do 2-oxo-4-fenilbutanoato de etila (I) foi feita em escala piloto por Blaser et al, Journal of Molecular Catalysis A: Chemical 1996, 107, 85-94, para a obtenção do 2-(*R*)-hidroxi-4-fenilbutanoato de etila (II) a ser utilizado como intermediário na síntese do benazepril (IV), conforme esquema abaixo:



Benazepril

Após um estudo minucioso dos resultados obtidos e dos custos na utilização de catálise homogênea e heterogênea, esta última apresentou os melhores resultados, tendo sido utilizado como catalisador 5% Pt/Al₂O₃ (pré-tratado com H₂ a 400C° por 4 horas), dihidrocinchonidina como auxiliar quiral, pressão de H₂ de 70 atm, temperatura ambiente e tempo de reação de 3-5 horas, obtendo-se um excesso enantiomérico de (II) de 80-92% e um rendimento de 98%. Bartók et al, Applied Catalysis A: General 2002, 237, 275-280, otimizou o processo diminuindo a pressão de H₂ para 25 atm. Pela adição contínua durante o processo do indutor quiral (dihidrocinchonidina), Sun et al, J. Am. Chem. Soc. 1999, 121(20), 4920-4921, conseguiram manter a relação Pt/dihidrocinchonidina = 1, diminuindo a pressão de H₂ para 5,8 atm utilizando como catalisador 1%Pt/ Al₂O₃. Nestas condições os excessos enantioméricos (ee) de (II) foram de 80-87%.

Nakamura et al., Journal of Organic Chemistry 1988 (53), 2589-2583, reduziu 2-ceto-ésteres com a fórmula:



utilizando levedura de panificação (*Saccharomyces cerevisiae*) para a preparação de 2-hidroxi-ésteres com as fórmulas:



5

onde $\text{R}=\text{CH}_3\text{CH}_2\text{n}$: $\text{n}=0, 1, 2, 3$ e 4 . Foram obtidos excessos enantioméricos (ee) de 30 a 91% para o enantiômero S (VI) em meio aquoso e excessos enantioméricos (ee) de 47% e 54% para o enantiômero R (VII) para $\text{n}=3$ e 4 respectivamente, quando a reação ocorreu em hexano ao invés de água. Os rendimentos químicos nos processos variaram de 29 a 47%.

10

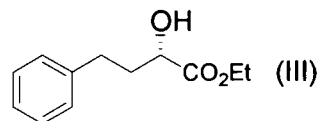
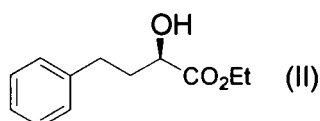
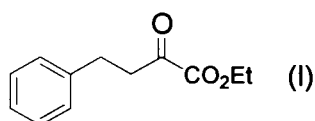
O controle estereoquímico da redução enantiosseletiva de α -cetoésteres (IV) em que $\text{R}=\text{CH}_3, \text{C}_2\text{H}_5, \text{C}_3\text{H}_7, \text{C}_4\text{H}_9, \text{C}_5\text{H}_{11}, (\text{CH}_3)_2\text{CH}$ utilizando levedura de panificação foi conseguido por Nakamura et al, Bull. Chem. Soc. Jpn. 1993, 66, 2738 – 2743, utilizando solventes orgânicos tais como: ciclohexano, hexano, éter *t*-butil-metilico, éter diisopropílico, *p*-xileno, tolueno, mesitileno, benzeno e acetato de *t*-butila puros ou contendo uma pequena quantidade de água. Os rendimentos variaram de 3 a 36% e os excessos enantioméricos (ee) de 55 a 85%, tendo sido obtido o produto com a configuração R preferencialmente em todos os casos.

15

20

A tentativa de Matsuyama et al., US Pat 5,371,014 (1994), de produzir o (R)-2-hidroxi-4-fenil-butanoato de etila (II) e o (S)-2-hidroxi-4-fenil-butanoato de etila (III) por redução microbiológica do 2-oxo-4-fenil-butanoato de etila (I) utilizando células íntegras em meio aquoso não teve sucesso.

25



Foram testados 136 microrganismos dentre eles *Saccharomices cerevisiae*, *Pichia burtoni*, *Pichia farinosa*, *Pichia heedii*, *Pichia*

membranaefaciens e *Pichia opuntiae*. Os poucos resultados satisfatórios obtidos em relação aos excessos enantioméricos apresentaram baixos rendimentos inviabilizando a possibilidade de aumento de escala. Os resultados obtidos utilizando os microrganismos descritos acima são mostrados na Tabela 1 abaixo.

Tabela 1 – Resultados obtidos pelo processo da patente US 5,371,014

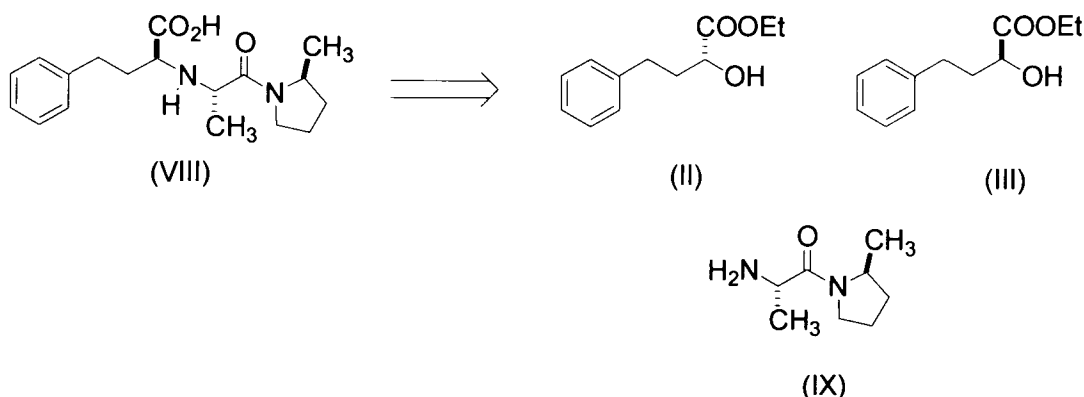
MICRORGANISMOS	REND. (%)	CONFIG. ABSOL.	ee(%)
<i>Pichia burtonii</i>	12	<i>S</i>	71
<i>Pichia farinosa</i>	20	<i>S</i>	67
<i>Pichia heedii</i>	21	<i>R</i>	69
<i>Pichia membranaefaciens</i>	47	<i>R</i>	33
<i>Pichia opuntiae</i> (IFO10024)	35	<i>R</i>	20
<i>Pichia opuntiae</i> (IFO10025)	10	<i>S</i>	34
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	15	<i>S</i>	32

Chadha et al, Tetrahedron: Asymmetry 1996, 7, 1571-1572, reportou que não foi possível reduzir o 2-oxo-4-fenilbutanoato de etila (I) utilizando *Saccharomyces cerevisiae*. A redução foi alcançada com sucesso utilizando extrato aquoso de células de *Daucus carota* (*cenoura selvagem*) com excelentes rendimentos químicos (90%) e excessos enantioméricos (>99%). Entretanto a utilização de culturas de células de planta requer uma grande quantidade de células em relação ao substrato (100:1) o que dificulta o aumento de escala do processo (*"scaled up"*). além disso, outra desvantagem é o longo tempo de processo (10 dias) inviabilizando sua utilização como um processo industrial.

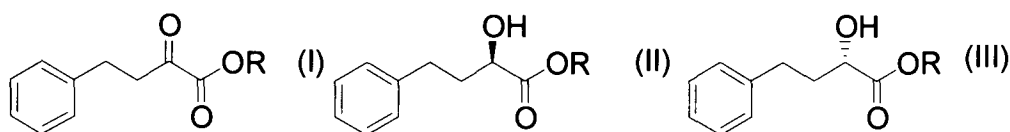
Oda et al, Bioscience Biotechnology and Biochemistry 1998, 62 (9), 1762-1767, produziu o 2-(*R*)-hidroxi-4-fenilbutanoato de etila (II) pela redução do 2-oxo-4-fenilbutanoato de etila (I) em bioreator de interface utilizando os microrganismos *Rhodotorula minuta* IFO 0920 e *Candida holmii* KPY 12402. Os excessos enantiomérico obtidos foram de 95 e 94% para a *R. minuta* e para a *C. holmii* respectivamente. O tempo de incubação foi de 4 dias e os rendimentos em torno de 60%.

Dao *et al*, Bull. Chem. Soc. Jpn. 1998, 71, 425-432, reportou que *Saccharomyces cerevisiae*, pré-incubado na presença de cloreto de fenacila em éter dietílico aquoso reduz enantiosseletivamente o 2-oxo-4-fenilbutanoato de etila (I) com rendimentos de 80-90% e excessos enantioméricos em torno de 80% fornecendo o 2-(*R*)-hidroxi-4-fenilbutanoato de etila (II).

Os compostos (II) e (III) podem ser utilizados como intermediários na síntese dos inibidores da enzima conversora da angiotensina (ACE). O enalapril (VIII), como exemplo, pode ser obtido diretamente através de uma reação S_N2 da amida (IX) com o álcool (II) ou através de duas etapas, fazendo inicialmente uma primeira inversão no álcool (III) utilizando um deslocamento modificado de Mitsunobu, Ponzo *et al*, Tetrahedron Letters 1995, 36, 9105-9108, e em seguida o deslocamento S_N2 com a amida (IX).



Na fórmula (I) R é um grupo alquil, preferencialmente tendo de 1 a 6 átomos de carbono e mais preferencialmente um grupo etila.



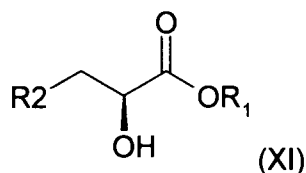
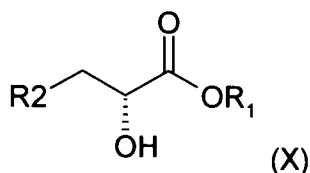
Não só na síntese de precursores de substâncias inibidoras da ECA os α -hidroxi-esteres possuem aplicabilidade: O documento US 4,332,952 relata o

uso de moléculas antihiperglicemiantes pertencentes à classe das oxazolidine-2,3-dionas 5-substituídas que usam como precursor imediato α -hidroxi-ésteres. Já o documento EP 1055664 descreve a produção de α -hidroxi-ésteres, em especial β -amino- α -hidroxi-ésteres, que são importantes intermediários para produtos farmacêuticos e agroquímicos. O documento WO 04/069835 descreve agonistas muscarínicos derivados de azabíciclo hexano cuja produção envolve a redução de α -ceto-ésteres a α -hidroxi-ésteres. No entanto nenhum desses documentos descreve a preparação de α -hidroxi-ésteres a partir da redução enzimática de α -ceto-ésteres.

No entanto nenhum documento ou patente descreve a preparação de α -hidroxi-ésteres com elevado rendimento e estereoseletividade a partir do uso de redutases de fungos e α -ceto-ésteres. Descobriu-se que α -hidroxi-ésteres podem ser produzidos pela redução de α -ceto-ésteres com moderadas a altas seletividades, em uma temperatura conveniente, utilizando uma cetona redutase comumente encontrada em fungos pertencentes à família *Saccharomycetaceae*, em especial nos gêneros *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Hansenula*, *Dekkera* e *Candida*, assim como em fungos pertencentes à família *Dothioraceae*, em especial do gênero *Aureobasidium*.

20 OBJETO DA INVENÇÃO

É um objeto da presente invenção a produção de um α -hidroxi-éster de fórmula geral (X) ou (XI)

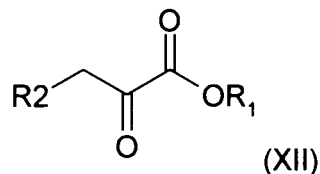


onde:

25 R1 corresponde a um radical alquil; e

R2 corresponde a um radical arilalquil;

pela reação de uma enzima com um composto de fórmula geral (XII):



onde:

R1 corresponde a um radical alquil; e

R2 corresponde a um radical arilalquil;

- 5 Mais especificamente, tal produção envolve uma etapa de redução enzimática, especificamente o uso de uma redutase, mais especificamente o uso de uma carbonila redutase, e de um α -ceto-ester.

É um adicional objeto da presente invenção a produção de α -hidroxi-esteres com altos rendimentos e elevada estereoseletividade.

- 10 É um adicional objeto da presente invenção o uso de enzimas para a redução do α -ceto-ester. Em especial as enzimas podem ser utilizadas a partir de células íntegras do próprio microorganismo ou em solução, juntamente com um sistema regenerador.

- É um adicional objeto da presente invenção o uso de microorganismos
 15 pertencentes à família *Saccharomycetaceae*, em especial nos gêneros *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Hansenula*, *Dekkera* e *Candida*, assim como os pertencentes à família *Dothioraceae*, em especial do gênero *Aureobasidium*. Em especial os microorganismos *Kluyveromyces marxianus*, *Hansenula sp*, *Pichia pastoris*, *Pichia angusta*, *Pichia anomala*, *Aureobasidium pullulans* e/ou *Cândida guilliermondii* para a produção de um estereoisomero e
 20 *Saccharomyces cerevisiae* ou *Dekkera sp* para a produção do outro estereoisomero.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

- 25 Todas as espécies mencionadas acima podem ser utilizadas para obtenção dos produtos desejados, entretanto, altas conversões e altas seletividades são preferencialmente obtidas utilizando enzimas ou células íntegras de *Pichia pastoris* e mais preferencialmente *Pichia angusta* para

obtenção do composto (XI) pela redução do composto (XII) e enzimas ou células íntegras de *Saccharomices cerevisiae* ou *Dekera sp* para obtenção do composto (X) pela redução do composto (XII).

Em geral, um co-fator, normalmente NADPH (nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato) ou NADH (nicotinamida adenina dinucleotídeo) e um sistema para regeneração da forma reduzida do co-fator, envolvendo uma fonte de carbono/energia, por exemplo glicose, e enzimas de vias metabólicas que oxidam a fonte de carbono, por exemplo, glicose dehidrogenase, são usados juntamente com a enzima para promover a reação. Os co-fatores e o mecanismo necessários para promover a redução já estão presentes nas células íntegras, sendo preferencial o uso das células íntegras em um meio contendo nutrientes, preferencialmente contendo uma fonte de carbono apropriada que pode incluir uma ou mais das seguintes substâncias: um açúcar, como exemplo: maltose, sacarose ou preferencialmente glicose; um polilol, como exemplo: glicerol ou sorbitol; ácido cítrico, ou um álcool de baixo peso molecular, como por exemplo, metanol ou etanol. Desta forma, para efeitos desta invenção a expressão "sistema regenerador" significa um conjunto de substâncias que compreendem um co-fator para a enzima, uma fonte de energia e enzimas adicionais capazes de promover de maneira eficaz a redução da enzima redutase.

Se ocorrer crescimento das células íntegras durante a reação, fontes ou traços de nitrogênio e fósforo podem estar presentes no meio. Estas fontes são usadas normalmente na cultura de microorganismos.

O processo pode ser executado pela adição do composto com a fórmula (XII) a uma cultura do microorganismo em crescimento, em um meio propício para tal, ou a uma suspensão das células vivas em um meio contendo uma fonte de carbono, mas carente de um ou mais nutrientes necessários para o crescimento celular. Células mortas podem ser utilizadas se providas com sistemas enzimáticos e substratos necessários para a regeneração dos co-fatores reduzidos, para que ocorra a reação.

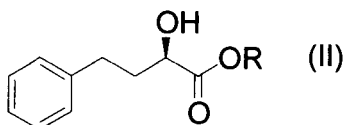
O processo pode ser levado a efeito com células imobilizadas em um suporte garantindo-se entretanto o contato das células com o composto com a fórmula (XII), preferencialmente na presença de uma fonte de carbono apropriada, descrita previamente.

- 5 O pH apropriado está na faixa de 3,5 à 9, mais preferencialmente de 4 à 6. O processo é preferencialmente executado a temperatura na faixa de 10 à 50°C, preferencialmente 20 à 40°C, e mais preferencialmente 25 à 30°C. É preferível utilizar condições aeróbicas se células íntegras dos supracitados microorganismos estiverem presentes. Uma velocidade de aeração equivalente
- 10 de 0,01 à 1 volume de oxigênio, medida nas condições normais de temperatura e pressão, por volume do meio de cultura por minuto é utilizada apropriadamente para as condições supracitadas de pH e temperatura podendo ocorrer consideráveis variações. O oxigênio utilizado pode vir do ar atmosférico. Condições similares de pH, temperatura e aeração podem ser
- 15 utilizadas durante o crescimento do microorganismo se ele for feito separadamente do processo.

- As reações podem ser efetuadas com enzimas isoladas destes microorganismos. Enzimas isoladas podem ser purificadas através de métodos conhecidos, como por exemplo: centrifugação de uma suspensão de células
- 20 desintegradas, separação da solução límpida dos fragmentos celulares, separação da enzima desejada da solução, como exemplo, através de uma cromatografia de troca iônica apropriada ou através de precipitação seletiva pela adição de uma substância iônica apropriada, como exemplo, sulfato de amônia. As operações podem ser repetidas para aumentar a pureza das
- 25 enzimas isoladas.

Exemplo 1

Preparação do composto com a fórmula (II) (R=Et)



Os microorganismos foram mantidos em placa de Petri contendo Agar, preparadas pela dissolução de 0,8g de extrato de levedura, 2,0g de extrato de malte, 0,8g de glicose, 4,0g de agar em 200ml de água e posterior esterilização em autoclave.

- 5 O crescimento celular foi feito inoculando-se assepticamente, a partir da placa de Petri, o microorganismo para um erlenmeyer de 250ml contendo uma solução esterilizada com 1% de glicose, 0,5% de extrato de levedura, 0,5% de peptona, 0,1% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (sulfato de amônia), 0,1% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (sulfato de magnésio hepta hidratado) em 100ml de água.

- 10 Os microorganismos foram cultivados a 24°C em um shaker orbital a 150 rpm por 24-48 horas.

- Os microorganismos foram coletados por centrifugação a 3070 rpm por 15 min a temperatura ambiente (25°C). As células foram re-suspendidas em 100ml de uma solução aquosa contendo 5% de glicose, 0,1% de MgCl_2 (cloreto de Magnésio), 1% de etanol. Após adição de 150mg do composto com a fórmula (I), as células foram incubadas em um shaker rotatório a 24°C a uma rotação de 150 rpm por 18-24 horas. Após este período, a mistura reacional foi centrifugada a 3070 rpm por 15 min a temperatura ambiente (25°C), extraída com acetato de etila, a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e o
- 15
- 20 solvente foi removido através de destilação a vácuo fornecendo um óleo levemente amarelado.

- As conversões do composto com a formula (I) para formar os compostos com as fórmulas (II) e (III) e os respectivos excessos enantioméricos foram determinados por cromatografia a gás quiral de alta resolução. As
- 25 condições utilizadas são descritas abaixo:

Cromatógrafo: Variant Star 3400 CX.

Coluna: Cyclodex B capilar (30m x 0,25, id) fornecida pela J & W Scientific (112-2532).

Gás de arraste: Hélio.

- 30 Split: 40:1

Temperatura do injetor: 230°C.

Temperatura de detector: 230°C.

Temperatura inicial: 120°C (30 min).

Rampa: 2°C/min.

Temperatura final: 200°C.

- 5 O composto (III) e uma mistura racêmica de (II) + (III), obtida pela redução de (I) utilizando BH_3 , foram utilizadas como padrão cromatográfico. Os tempos de retenção dos compostos com as formulas (I), (II) e (III) foram respectivamente: 49,5 minutos, 50,3 minutos e 50,9 minutos. Todos os composto foram isolados e caracterizados por espectrometria de ressonância
- 10 magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) e por espectrometria no infravermelho (IV).

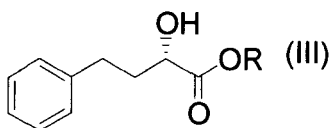
Os resultados obtidos, tais como excessos enantioméricos (ee), conversões e rendimentos, são mostrados na Tabela 2.

15 TABELA 2

Microorganismo	Conversão (%)	Excesso enantiomérico (%) (config.)	Rendimento (%)
<i>Pichia angusta</i> ATCC: 16.763	100	80 (R)	82
<i>Pichia pastoris</i> IQ-DBQ	96	28 (R)	86
<i>Pichia anômala</i> ATCC: 16.763	96	21 (R)	82
<i>Kluyveromices marxianus</i> EQ-UFRJ	91	32 (R)	57

Exemplo 2

- Preparação do composto com a fórmula (III) enantiômero do
- 20 composto com a fórmula (II) (R=Et).



Os microorganismos foram conservados e crescidos como descrito no Exemplo 1. A biotransformação e as análises foram feitas exatamente como descrito no Exemplo 1.

- 5 Os resultados obtidos são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3

Microorganismo	Conversão (%)	Excesso enantiomérico (%) (config.)	Rendimento (%)
<i>Saccharomices cerevisiae</i> EQ-UFRJ	96	100 (S)	65
<i>Saccharomices cerevisiae</i> selvagem DBQ	96	95 (S)	71
<i>Saccharomices cerevisiae</i> P403CD1	96	97 (S)	60
<i>Saccharomices cerevisiae</i> P4030C	93	73 (S)	66
<i>Saccharomices cerevisiae</i> Fleischmann	99	79 (S)	78
<i>Dekera</i> sp. EQ-UFRJ	91	93 (S)	72
<i>Hansenula</i> sp. EQ-UFRJ	9	32 (S)	9
<i>Aureobasidium pullulans</i> ATCC: 9.348	96	63 (S)	77
<i>Cândida guilliermondii</i> CT ATCC: 6.260	100	100 (S)	21

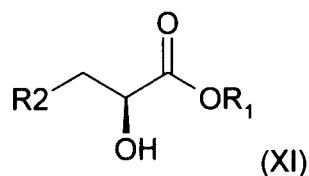
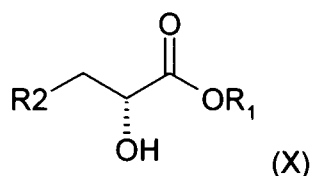
Abreviaturas:

- 10 ATCC - American Type Culture Collection, 123031 Parklawn Drive, Rockville, Maryland 20852 USA.
 IQ-DBQ – Departamento de Bioquímica do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro
- 15 EQ-UFRJ – Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro
 ee – Excesso enantiomérico
 IV – Infravermelho
 NADPH – Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
 NAD – Nicotinamida adenina dinucleotídeo
- 20 RMN ¹H – Ressonância magnética nuclear de Hidrogênio-1

Reivindicações

PROCESSO DE PRODUÇÃO DE α -HIDROXI-ÉSTERES

- 5 1. Processo de produção de um α -hidroxi-éster de fórmula geral (X) ou (XI):

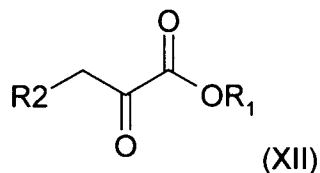


onde:

R1 corresponde a um radical alquil; e

10 R2 corresponde a um radical arilalquil;

caracterizado pela reação de uma enzima com um composto de fórmula geral (XII):



onde:

15 R1 corresponde a um radical alquil; e

R2 corresponde a um radical arilalquil;

2. Processo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por R1 ser etil e R2 ser metilbenzeno.
3. Processo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pela enzima ser uma redutase.
- 20 4. Processo, de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pela redutase ser uma carbonila redutase.
5. Processo, de acordo com as reivindicações 1, 3 e 4, caracterizado pela enzima estar em solução, no interior de células íntegras de
- 25 microorganismos ou mistura dos mesmos.

6. Processo, de acordo com a reivindicação 5, caracterizado por compreender adicionalmente um sistema regenerador para enzima utilizada.
- 5 7. Processo, de acordo com as reivindicações 5 e 6, caracterizado pelo sistema regenerador estar em solução, no interior de células íntegras de microorganismos ou misturas dos mesmos.
8. Processo, de acordo com as reivindicações 5 a 7, caracterizado pelas células de microorganismos compreenderem em seu interior simultaneamente a enzima e o sistema regenerador.
- 10 9. Processo, de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelos microorganismos serem escolhidos do grupo que compreende microorganismos das famílias *Saccharomycetaceae*, *Dothioraceae* e mistura dos mesmos.
- 15 10. Processo, de acordo com a reivindicação 9, caracterizado pelos microorganismos da família *Dothioraceae* pertencerem ao gênero *Aureobasidium*.
11. Processo, de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelos microorganismos do gênero *Aureobasidium* pertencerem à espécie *Aureobasidium pullulans*.
- 20 12. Processo, de acordo com a reivindicação 9, caracterizado pelos microorganismos da família *Saccharomycetaceae* pertecerem aos gêneros *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Hansenula*, *Dekkera* e/ou *Cândida*.
- 25 13. Processo, de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelos microorganismos do gênero *Kluyveromyces* pertencerem à espécie *Kluyveromyces marxianus*.
14. Processo, de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelos microorganismos do gênero *Pichia* pertencerem às espécies *Pichia angusta*, *Pichia pastoris* e/ou *Pichia anomala*.

15. Processo, de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelos microorganismos do gênero *Saccharomyces* pertencerem à espécie *Saccharomyces cerevisiae*.
- 5 16. Processo, de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelos microorganismos do gênero *Candida* pertencerem à espécie *Cândida guilliermondii*.
- 10 17. Processo, de acordo com a reivindicação 5, caracterizado por compreender adicionalmente um meio nutriente para os microorganismos, onde o meio nutriente contém fontes de C, N, P e O.

Resumo**PROCESSO DE PRODUÇÃO DE α -HIDROXI-ÉSTERES**

- 5 Os compostos com a fórmula (X) e (XI) são produzidos através de redução seletiva do composto com a fórmula (XII) utilizando enzimas redutases produzidas por microorganismos pertencentes às famílias *Saccharomycetaceae* e/ou *Dothioraceae*.

